© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

C-Freisetzung durch Pflanzenwurzeln

W. MERBACH

Abstract:

Experiments on C-balance with wheat and Luzerne show that 60 to 70 percent of the carbon fixed by CO_2-assimilation is used by plants for synthesis. 10 to 25 percent are due to respiration and 10 to 15 percent are released by the roots into the surrounding soil. This last percentage is subject to secondary microbial respiration to an extent of 64 to 86 percent. The rest remaining around the roots was water-soluble (75 percent) and consisted mainly of carbohydrate and organic acids.

Einleitung

Pflanzenwurzeln haben vielfältige Funktionen. Sie verankern die Pflanzen im Boden, dienen der Nährstoff- und Wasseraufnahme und sind Synthese- und Speicherorgane. Darüber hinaus setzen sie organische Kohlenstoffverbindungen frei und beeinflussen dadurch den umgebenden Boden. Dadurch wird insbesondere der Kontaktraum zwischen Wurzeln und Boden (Rhizosphäre) ein Ort intensiver dynamischer Wechselwirkungen zwischen Pflanzen, Mikroorganismen und Bodenbestandteilen. Diese Interaktionen haben große Bedeutung für die Entwicklung, die Gesundheit und den Ertrag der Pflanzen (CURL & TRUELOVE 1986, MERBACH et al. 1990). Dabei spielen die wurzelbürtigen C-Verbindungen eine wesentliche Rolle, da sie Löslichkeit, Sorption und Transport von Nähr- und Schadelementen (DINKELLAKER et al. 1989, MEINCH et al. 1987, MERBACH 1985), den Umsatz organischer Substanzen (CLARKHOLM 1985) sowie Aktivität und „turnover" von Mikroben (JAGNOW 1987) beeinflussen. Das Verständnis der Rhizosphärenprozesse würde neue, stärker ökologisch orientierte Wege zur Beeinflussung von Ertragsbildung, Bodenfruchtbarkeit und Krankheitsbefall eröffnen. Davon ist man jedoch derzeit noch weit entfernt. Bis vor kurzem fehlten sogar noch verläßliche und reproduzierbare Daten über die Menge der (primär) wurzelbürtigen C-Verbindungen, insbesondere unter Bodenbedingungen. Nachfolgend werden hierzu einige Resultate vorgestellt, die auf einer Bilanzierung des von den Pflanzen in der CO_2-Assimilation fixierten Kohlenstoffs fußen.

Material und Methoden

Prinzipien der C-Bilanzierung

Die Bilanzierung der C-Verwertung der Versuchspflanzen (Sommerweizen, Sorte „Mario", Luzerne, Sorte „Verko") erfolgte auf der Basis von Anzuchtgefäßen. Es kamen 2 Verfahren zum Einsatz:

a) Der C-Grobbilanzierung lag folgende Beziehung zugrunde:

$$C_{FW} = D_O - (R_D + \Delta TS)$$

Darin bedeuten (jeweils bezogen auf 10 d): D_O = apparente CO_2-Assimilation (g CO_2-Influx im Licht), R_D = Atmung der Gesamtpflanzen im Dunkeln (g CO_2-Efflux im Dunkeln), Δ TS = Trockensubstanzzuwachs während der Versuchszeit und C_{FW} = C-Freisetzung durch die Wurzeln (alle Daten in C-Äquivalenten). Von diesen Größen waren D_O, R_D und Δ TS experimentell zugänglich, C_{FW} wurde errechnet.

b) Die ^{14}C-Feinbilanzierung beruht auf zwei Grundprinzipien, und zwar:

Verabreichung von $^{14}CO_2$, um die primär wurzelbürtigen $^{(14)}C$-Verbindungen von den vorher im Boden befindlichen $^{(12)}C$-Substanzen unterscheiden zu können. Dabei wurde den in sogenannten „Doppelkompartimentgefäßen" (Abb. 1) herangezogenen Pflanzen über die Sprosse $^{14}CO_2$-haltige Luft angeboten (luftdichte Tren-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

nung von Wurzel- und Sproßraum). Zu Versuchsende erfolgte die Bilanzierung der Verteilung des assimilierten ^{14}C auf Pflanzensubstanz, Wurzelatmung (periodisches „Ausblasen" des $^{14}CO_2$ aus dem Wurzelraum, vgl. Abb. 1) und Boden.

Vergleich steriler und nicht steriler Anzuchten, um die Wurzelatmung von der sekundären Wurzelexsudatveratmung durch Mikroben unterscheiden zu können. Dabei wird die $^{14}CO_2$-Wurzelatmung der Sterilvariante (R_S) als eigentliche Wurzelatmung (R_W) und diejenige der unsterilen Anzucht (R_{NS}) als Summe der Wurzelatmung (R_W) und der mikrobiellen Exsudatveratmung (E_R) angenommen:

$$R_S = R_W \quad (1)$$

$$R_{WS} = R_W + E_R \quad (2)$$

Daraus ergibt sich der veratmete Exsudatanteil E_R als

$$E_R = R_{NS} - R_S \quad (3).$$

E_R wird zu der im Boden befindlichen ^{14}C-Menge addiert, und man erhält so die tatsächliche Menge der primär wurzelbürtigen C-Verbindungen.

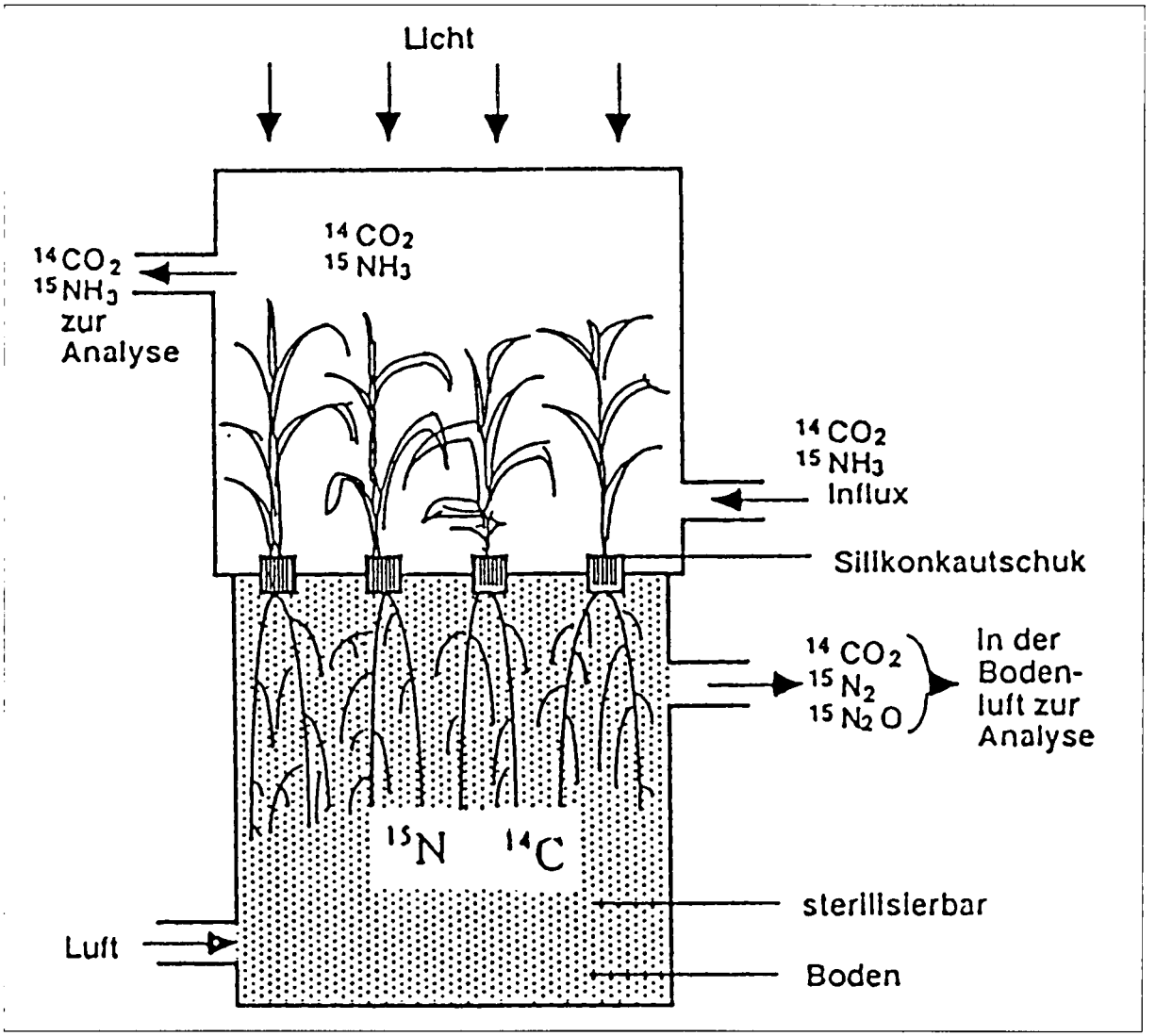

Abb. 1: Prinzip der Gefäße zur $^{14}CO_2$-Begasung der Pflanzensprosse. Der Sproßraum (oberes Gefäß), der ggf. auch als Küvette für mehrere Untergefäße dienen kann, ist vom Wurzelraum (unteres Gefäß) gasdicht abgetrennt. Der Wurzelraum ist sterilisierbar und für Gase „durchblasbar" (in Anlehnung an MERBACH 1992).

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Teilcharakterisierung wurzelbürtiger C-Verbindungen

Die (primär) wurzelbürtigen (^{14}) C-Verbindungen wurden weiter aufgetrennt in a) veratmetes $^{14}CO_2$ (Auffangen in NaOH) und im Boden verbleibenden ^{14}C, b) nach unterschiedlicher Wasserlöslichkeit und c) in saure, neutrale und basische Anteile (nur wasserlösliche Exsudate).

Versuchsanstellungen und Methoden

Für die **C-Grobbilanzierungen** wurden die Pflanzen in Mitscherlichgefäßen mit 6 kg Boden bei 60 % der maximalen Wasserkapazität mit folgender Grunddüngung herangezogen: 2,91 g $CaHPO_4 . 2 H_2O$, 3,05 g $MgSO_4 . 7 H_2O$, 1,85 g K_2SO_4, 2 ml $FeCl_3$-Lösung (5%ig). 1 ml A-Z-Lösung. Für die **^{14}C-Bilanzierung** dienten die o. a. Spezialgefäße mit 330 g Boden und entsprechenden geringeren Düngermengen. Pflanzenanzahl und Vegetationsstadien lassen sich den Tabellen 1 und 2 entnehmen.

Die **Sterilisation des Bodens** in den Untergefäßen (Wurzelraum, vgl. Abb. 1) erfolgte durch 4-maliges fraktioniertes Autoklavieren mit zwischenzeitlicher Bebrütung. Vor der Aussaat wurden die Samen der Versuchspflanzen oberflächensterilisiert (3%iges H_2O_2, NaOCl). Die Sterilitätskontrollen geschahen durch mikroskopische Keimzahlbestimmungen und Beimpfung von Agarplatten mit nachfolgender Kolonienauszählung.

Die **CO_2-Gaswechselmessungen** zur Ermittlung der apparenten CO_2-Assimilation (D_O) und der Atmung im Dunkeln (R_D) erfolgten gefäßweise mittels URAS (Infralyt Junkalor Dessau) im offenen System. Die Versuchsbedingungen sind den Tab. 1 und 2 zu entnehmen.

Die **Ermittlung von Δ TS** geschah als Differenz der TS zu Versuchsende und der TS zu Versuchsbeginn (Vorernte). Zur Umrechnung von TS in C-Äquivalente wurde der **C-Gehalt** der TS durch ein Trockenverbrennungsverfahren nach KNOF (1985) bestimmt (C-Gehalte der Pflanzensubstanz vgl. Tab. 1).

Die **Ernte und Probenaufbereitung** geschah wie folgt:

Zu Versuchsende wurden die Pflanzen geerntet, mechanisch in Sproß und Wurzeln getrennt (bei ^{14}C-Bilanzierung vorher fraktionierte Extraktion des an den Wurzeln haftenden Bodens durch mehrmaliges Tauchen), bei 60 ^{o}C bis zur Massenkonstanz getrocknet (Trockensubstanz (TS) - Feststellung) und fein vermahlen (0,2 mm Korngröße). Das Bodenmaterial erfuhr die gleiche Vorbehandlung. Je nach Versuchsansatz wurde das Material danach weiter aufgetrennt und der C- bzw. ^{14}C-Analytik zugeführt.

Die Auftrennung der H_2O-löslichen ^{14}C-Exsudate erfolgte durch Ionenaustauscher-Chromatographie (Dowex 50 W x 8; Dowex 1 x 8). Dabei wurde die basische Fraktion vereinfacht als Aminosäure (AS)-Fraktion, die saure als OS (org. Säuren)-Fraktion und die neutrale als Zuckerfraktion (KH) bezeichnet. Die Wiederfindungsquote betrug 88 - 94 % (MERBACH et al. 1990).

Die ^{14}C-Radioaktivitätsbestimmung erfolgte szintillationsspektrometrisch.

Die statistische Verrechnung der Resultate wurde mittels Varianzanalyse und nachfolgendem TUKEY-Test vorgenommen.

Ergebnisse und Diskussion

Die Resultate der **C-Grobbilanzierung** finden sich in Tabelle 1. Sie zeigen, daß der Weizen mit etwa 65 % einen größeren Anteil des in der apparenten CO_2-Assimilation fixierten C für die TS-Bildung (Zeile 3) verwendete als die Luzerne mit ca. 40 %. Die Ursache dafür ist wohl in dem relativ hohen Atmungsanteil der Luzerne (ca. 40 %, vgl. Zeile 2) zu suchen. Auf die C-Freisetzung der Wurzeln entfielen bei beiden Arten etwa 20 % der apparenten CO_2-Assimilation (Zeile 4). Diese Werte liegen in vergleichbaren Größenordnungen wie Literaturbefunde (vgl. z. B. WHIPPS & LYNCH 1983), soweit bisher im Schrifttum Informationen dazu existieren (Weizen). Bezogen auf den C-Ertragszuwachs Δ TS schwankte der Anteil der C-Freisetzung zwischen 30 % (Weizen) und 50 % (Luzerne) und erreichte damit ein für die Rhizosphärenprozesse nicht zu negierendes Ausmaß. Die C-Grobbilanzierung besitzt jedoch nur eingeschränkte Aussagekraft, weil 1. CF_W errechnet und nicht analytisch

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

bestimmt wird, 2. R_D einen Anteil von Exsudatveratmung durch Mikroben enthält (Korrekturgefäße unbewachsen!) und 3. zwischen boden- und pflanzenbürtigem C nicht unterschieden werden kann.

Diese Nachteile vermeidet das oben beschriebene **^{14}C-Feinbilanzierungsverfahren** (vgl. 2.1.b). Der Einsatz von $^{14}CO_2$ gestattet die eindeutige Ermittlung des wurzelbürtigen C, und aus der Differenz der $^{14}CO_2$-Wurzelatmung nicht steriler und steriler Varianten läßt sich die tatsächliche Höhe der Wurzel-C-Freisetzung in hinreichender Näherung ermitteln. Die mit dieser Methode erzielten Resultate (Tab. 2) weisen gegenüber der C-Grobbilanzierung eine stärkere C-Verwertung für die TS-Synthese aus (Weizen 72 %, Luzerne 61 % der Netto-CO_2-Assimilation, vgl. Zeile 2). Dabei lassen sich aber ähnliche Tendenzen einer relativ hohen Atmung und niedrigeren ^{14}C-Einbaus in die TS bei Luzerne (Zeilen 2 und 3) erkennen (hohe C-Kosten für die N_2-Fixierung?, vgl. auch bei MERBACH 1984). Die mittels ^{14}C ermittelte C-Freisetzung der Wurzeln (Spalte 4) lag zwar etwas niedriger als bei der Grobbilanzierung, betrug aber dennoch etwa 20 % der $^{14}CO_2$-Nettoassimilation bzw. 25 % des in die Pflanzensubstanz eingebauten ^{14}C. Bei Annahme eines Ertrages von 40 dt C/ha entspräche dies etwa 10 dt C/ha. Solche Mengen dürften für die Sicherung des Energiebedarfs der Rhizosphärenmikroben eine wesentliche Rolle spielen. Dafür spricht auch, daß 64 - 86 % der primär wurzelbürtigen C-Verbindungen durch die Mikroben kurzfristig veratmet wurden (Tab. 2, Zeile 4a). Sicherlich sind solche Stoffumsätze nicht ohne ökologische Relevanz. Ihre genauere Erforschung erscheint da-

Tab. 1: Grobbilanzierung der C-Verwertung von Weizen und Luzerne
Mitscherlichgefäße mit Boden. Begasung mit 220 l . h^{-1} Luftdurchfluß (0,035 Vol-% CO_2), 12 h Licht, 12 h Dunkelheit, 25 °C, 20 klx, Mittelwerte aus 4 Parallelgefäßen. Pflanzen je Gefäß: 15 bei Weizen, 10 bei Luzerne

C-Verteilung ($g\ C \cdot (10\ d)^{-1} \cdot Gefäß^{-1}$)		Sommerweizen „Mario" 4-6-Blattstadium	Luzerne „Verko" 3. Aufwuchs 10-12 Blätter
1.	D_O = apparente CO_2-Assimilation (CO_2-Influx im Licht)	2,01 (100)	2,98 (100)
2.	R_D = Atmung im Dunkeln (CO_2-Efflux im Dunkeln)[1)]	0,33 (16,4)	1,18 (39,6)
3.	Δ TS = Trockenmassezuwachs[2)]	1,30 (64,7)	1,20 (40,3)
4.	CF_W = C-Freisetzung der Wurzeln[3)]	0,38 (18,9)	0,60 (20,1)
5.	CF_W rel. zu Δ TS	29,3	50,0

[1)] Um die Bodenatmung korrigiert
[2)] Errechnet aus dem Trockenmassezuwachs gegenüber Versuchsbeginn nach den Ergebnissen der C-Bestimmung (C-Gehalte in der TS: Weizen 34,5 %, Luzerne 41,5 %, C-Bestimmung nach KNOF 1985)
[3)] $CF_W = DO - (R_D + \Delta TS)$, vgl. Methodenteil

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Tab. 2: Bilanzierung der C-Verwertung im System Pflanze/Boden bei Weizen und Luzerne nach $^{14}CO_2$-Begasung der Pflanzensprosse
Gefäßversuche mit unsterilem Boden, 5 d Begasung mit $^{14}CO_2$-haltiger Luft (0,03 Vol-% CO_2, spezifische ^{14}C-Radioaktivität 21645 Bq/mg C; 12 h hell (40 klx), 12 h dunkel, 20 °C)

^{14}C-Fraktion	Weizen 4-6-Blattstadium			Luzerne 6-8-Blattstadium		
	Bq/gTS	rel. zu 1	rel. zu 2	Bq/gTS	rel. zu 1	rel. zu 2
1. Im System befindlicher ^{14}C (=apparente CO_2-Assimilation-Sproßatmung)	663881	100	-	1173741	100	-
2. ^{14}C-Inkorporation in das Pflanzengewebe	477449	71,9	100	713414	60,8	100
3. ^{14}C aus Wurzelatmung RW[1)]	65194	9,8	13,7	290732	24,8	40,8
4. ^{14}C-Freisetzung in Rhizosphäre und Boden	121238	18,3	25,4	169553	14,4	23,8
a) davon durch Mikroben während d. Versuchszeit veratmet (ER)[2)]	104881 (=86% d. wurzelbürt. ^{14}C)	15,8	22,0	108774 (=64% d. wurzelbürt. ^{14}C)	9,2	15,2
b) im Boden verbleibender ^{14}C	16357	2,5	3,4	60779	5,2	8,6

[1)] entspricht Respiration einer sterilen Vergleichsvariante, die als reale Wurzelatmung angenommen wurde
[2)] $ER = R_{SS} - R_S$ (vgl. Ableitung im Text)

her von nicht zu unterschätzender Bedeutung. Ähnliches gilt auch für die stoffliche und funktionelle Charakterisierung der in der Wurzelumgebung verbleibenden pflanzenbürtigen C-Verbindungen, deren Gesamtmenge bei den untersuchten Arten (Tab. 2, Zeile 4b) immerhin 3,4 - 8,6 % des in die Pflanzensubstanz eingebauten C (= 350 - 850 kg C/ha) ausmacht.

Erste Resultate einer stofflichen Teilcharakterisierung der wurzelbürtigen ^{14}C-Verbindungen unter Bodenbedingungen sind in Tabelle 3 dargestellt. Zunächst wird ersichtlich, daß ca. 75 % davon in löslicher Form vorlagen, die sich (hier nicht dargestellt) in unmittelbarer Wurzelnähe befanden. Die durch Ionenaustauscherchromatographie vorgenommene Grobauftrennung der wasserlöslichen Exsudate zeigt, daß diese sich zum größten Teil aus Kohlenhydraten (KH) und organischen Säuren (OS) zusammensetzten, während Aminosäuren (AS) nur in geringerer Menge vorkamen.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Tab. 3: Teilfraktionierung der durch Weizenwurzeln je g Pflanzentrockensubstanz abgegebenen und im Boden verbleibenden (primär) wurzelbürtigen ^{14}C-Verbindungen (nach MERBACH et al. 1996)
Diese Ergebnisse müssen in weiteren Versuchen reproduziert und durch detaillierte quantitative Auftrennungen ergänzt werden.

Meßgröße		Bq	relativ	
Gesamtradioaktivität		16357		100 %
wasserunlöslich		4154		25,4 %
wasserlöslich		12203	100 %	74,6 %
davon	org. Säuren	4149	34,0 %	25,3 %
	Kohlenhydrate	5979	49,0 %	36,6 %
	Aminosäuren	732	6,0 %	4,4 %

Zusammenfassung

C-Bilanzierungsexperimente mit Weizen und Luzerne zeigten, daß von dem in der CO_2-Assimilation fixierten Kohlenstoff etwa 60 bis 70 % für Synthesezwecke der Pflanzen genutzt wurden. 10 bis 25 % entfielen auf die Atmung, und etwa 10 bis 15 % wurden durch die Wurzeln in den umgebenden Boden freigesetzt. Der letztgenannte Anteil unterlag zu 64 bis 86 % einer sekundären Mikrobenveratmung. Der in der Wurzelumgebung zu Versuchsende verbleibende Rest war zu 75 % wasserlöslich und bestand vorwiegend aus Kohlenhydraten und organischen Säuren.

Literatur

CLARHOLM S. (1985): Possible roles for roots, bacteria, protozoa and fungi in supplying nitrogen to plants. — Ecological interactions in soil, Oxford: 355-365.

CURL E.A. & B. TRUELOVE (1986): The Rhizosphere, Berlin.

DINKELLAKER B., RÖMHELD V. & H. MARSCHNER (1989): Citric acid emxcretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). — Plant Cell Environment **12**: 285-292.

JAGNOW G. (1987): Inoculation of cereal crops and forage grasses with nitrogen-fixing rhizosphere bacteria: possible causes of success and failure with regard to yield response - a review. — Z. Pflanzenernährung., Bodenk. **150**: 361-368.

KNOF G. (1985): Eine Gerätekombination zur Bestimmung des Kohlenstoffs und seines ^{14}C-Anteils in Wurzeln und anderen pflanzlichen Substanzen. — Arch. Acker- und Pflanzenbau., Bodenk. **29**: 23-30.

MERBACH W. (1984): N-Umsatz und symbiontische N2-Fixierung bei Körnerleguminosen. — Coll. Pflanzenphysiol. HU Berlin **7**: 311-323.

MERBACH W. (1985): Pflanzliche Aluminiumtoleranz und ihre möglichen Ursachen. — Mengen- und Spurenelemente (Leipzig) **5**: 367-374.

MERBACH W. (1992): Carbon balance in the system plant-soil. In: KUTSCHERA L. et al. (Eds), Root ecology and ist practical applications, Verein für Wurzelforschung Klagenfurt: 299-301.

MERBACH W., KNOF G. & G. MIKSCH (1990): Quantifizierung der C-Verwertung im System Pflanze-Rhizosphäre-Boden. — Tag.-Ber. Akad. Landw.-Wiss. Berlin **295**: 57-63.

MERBACH W., KNOF G., AUGUSTIN J., JACOB H.J., JÄGER R., & V. TOUSSAINT (1996): Ökophysiologische Wechselwirkungen zwischen Pflanze und Boden. In: MÜHLE H. & ST. CLAUS (Hrsg.), Reaktionsverhalten von agrarischen Ökosystemen homogener Areale. — B.G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig: 195-207.

MENCH M., MOREL J.L. & A. GUCKERT (1987): Metal binding properties of high molecular weight soluble exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. — Biology Fertil. Soils (Berlin) **3**: 165-169.

WHIPPS J.M. & I.M. LYNCH (1983): Substrate flow and utilization in the rhizosphere of cereals. — New Phytol. **95**: 605-623.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Wolfgang MERBACH
Institut für Rhizosphärenforschung und Pflanzenernährung im Zentrum für Agrarlandschafts- und Landnutzungsforschung (ZALF), Eberswalder Str. 84
D - 15374 Müncheberg
DEUTSCHLAND